



VLIV ELEKTROMAGNETICKÉHO POLE NA MIKROBIÁLNÍ POPULACE

Bakalářská práce

Studijní program: B3944 – Biomedicínská technika
Studijní obor: 3901R032 – Biomedicínská technika
Autor práce: **Kamila Pertlíková**
Vedoucí práce: Ing. Martin Truhlář, Ph.D.





EFFECT OF ELECTROMAGNETIC FIELD ON MICROBIAL POPULATION

Bachelor thesis

Study programme: B3944 – Biomedical Technology
Study branch: 3901R032 – Biomedical Technology
Author: **Kamila Pertlíková**
Supervisor: Ing. Martin Truhlář, Ph.D.



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kamila Pertlíková**
Osobní číslo: **Z11000012**
Studijní program: **B3944 Biomedicínská technika**
Studijní obor: **Biomedicínská technika**
Název tématu: **Vliv elektromagnetického pole na mikrobiální populace**
Zadávající katedra: **Ústav zdravotnických studií**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cíle práce:

Seznámení se s problematikou elektromagnetického pole.

Vypracování potřebné teorie a zpracování rešerše na dané téma elektromagnetického pole v biologických aplikacích se zaměřením na střídavé pole. Zpracování metodiky měření a vyhodnocení vzorků (bakteriální kmeny jako například *Escherichia coli* a *Micrococcus luteus*), které jsou ovlivňovány elektromagnetickým polem.

Teoretická východiska (včetně výstupu z BP):

V laboratoři se budou pozorovat a vyhodnocovat laboratorní modely s reálnými mikroorganismy. Součástí práce bude měření fyzikálních a chemických parametrů daných modelů. Ve světové literatuře je publikováno, že elektromagnetické pole má vliv na biologické tkáně a bakteriální populace. Cílem práce bude zaměření se na mikroorganismy a prověření daných hypotéz vlivu elektromagnetického pole.

Výzkumné otázky:

Hlavní výzkumnou otázkou práce je zaměření se na hodnocení vlivu elektromagnetického pole a jeho vlivu na bakteriální populace. Dosažené výsledky, které budou samostatně v laboratoři změřeny, budou porovnány s literaturou (dle odborné literatury viz níže a dalších).

Metoda: Kvantitativní

Technika práce, vyhodnocení dat:

Empiricky se bude pozorovat dané měření a experiment vyhodnocovat jak po stránce porovnávacích experimentů (vzorek vystavený elektromagnetickému poli v porovnání s kontrolním vzorkem) a dále se provede základní statistické vyhodnocení obou modelů.

Místo a čas realizace výzkumu:

Práce bude probíhat v laboratořích CxI (budova L), laboratoř biotechnologií, a to v měsících prosinec až březen.

Vzorek:

Hodnoceným vzorkem budou bakteriální populace (například *Escherichia coli* a *Micrococcus luteus*), kde dané kmeny ne/budou vystaveny elektromagnetickému poli.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

50 - 70 stran

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

viz příloha

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Martin Truhlář, Ph.D.

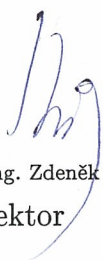
Ústav mechatroniky a technické informatiky

Datum zadání bakalářské práce:

12. září 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

30. dubna 2014


prof. Dr. Ing. Zdeněk Kús
rektor




Mgr. Marie Froňková
pověřena vedením ústavu

V Liberci dne 28. února 2014

Příloha zadání bakalářské práce

Seznam odborné literatury:

1. KATO, M.: Electromagnetics in Biology, Springer 2006, ISBN-13 978-4-431-27913-6.
2. SEDLÁK, Bedřich. Elektřina a magnetismus. Vyd. 2., opr. a rozš. Praha: Academia, 2002, 632 s. ISBN 80-200-1004-1.
3. Furik, Daniel. Vliv elektromagnetického pole na lidský organismus. Plzeň, 2013. bakalářská práce (Bc.). ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI. Fakulta elektrotechnická. Dostupné z: <https://portal.zcu.cz/portal/prohlizeni.html>
4. Bohatá, Martina. Vliv magnetického pole na bakteriální biofilm. Bakalářská práce, 2013. [online]. Dostupné z: https://stag-new.tul.cz/wps/PA_StagPortletsJSR168/KvalifPraceDownloadServlet?typ=1&adipidnc
5. CAREY, Roberta. SCHUSTER, Mindy. MCGOWAN, Karin. Lékařská mikrobiologie v klinických případech. 1.vyd. Praha : Triton, 2011. 321 s. ISBN 978-80-7387-480-3
6. PHARMA-REPORTS. Klinicky významné bakterie. 1. Vyd. Praha : Triton, 2012. 123 s. ISBN 978-80-7387-588-6
7. RULÍK, M. a kol. Mikrobiální biofilmy. 1. vyd. Olomouc : Univerzita Palackého v Olomouci, 2011. 447 s. ISBN 978-80-244-2747-8
8. PASSOS, F., HERNÁNDEZ-MARINÉ, M., GARCÍA, J., FERRER, I., N.D. Long-term anaerobic digestion of microalgae grown in HRAP for wastewater treatment. Effect of microwave pretreatment. Water Research.
9. BHATTACHARJEE, M.K., DELSOL, J.K., 2014. Does microwave sterilization of growth media involve any non-thermal effect? Journal of Microbiological Methods 96, 70?72.
10. HAMOUD-AGHA, M.M., CURET, S., SIMONIN, H., BOILLEREAUX, L., 2013. Microwave inactivation of Escherichia coli K12 CIP 54.117 in a gel medium: Experimental and numerical study. Journal of Food Engineering 116, 315?323.
11. SHARMA, S., SHARMA, D.S., PALEKAR, U., 2013. An in-vitro evaluation of microwave irradiation and denture cleansers on disinfection and destaining of denture base resin. Journal of Pierre Fauchard Academy (India Chapter) 27, 32?39.
12. ATTWA, A.M., AL-AKHALI, M.A., MTWALY, A.F., TAHA, A.R., 2012. Effect of the microwave irradiation on disinfection of complete denture lined with soft resilient liner. Indian Journal of Dentistry 3, 145?149.
13. WU, Y., YAO, M., 2010. Inactivation of bacteria and fungus aerosols using microwave irradiation. Journal of Aerosol Science 41, 682-693.

Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum:

Podpis:

Poděkování:

Děkuji Ing. Martinu Truhlářovi, Ph.D. a Ing. Lucii Křiklavové za vedení bakalářské práce, za cenné rady, podněty a připomínky. Veliké díky patří také Martině Bohaté, Tomášovi Janouškovi a Petře Škodové za odbornou pomoc a morální podporu při praktické části mé bakalářské práce.

Abstrakt:

Cílem bakalářské práce je zkoumat vliv elektromagnetického pole na mikrobiální populace, konkrétně na bakterie rodu *Micrococcus luteus* a *Escherichia coli*. Na základě praktických laboratorních experimentů bylo prokázáno, že elektromagnetické pole má na bakteriální populace dvojí vliv. První je vliv elektromagnetického pole na kolonizační schopnosti buněk (bakteriální populace rostoucí na živném agaru dorůstají větších rozměrů), druhým vlivem je působení elektromagnetického pole na reprodukční aktivitu bakteriálních populací (podle fluorescenčního pozorování byla prokázána vyšší četnost mikroorganismů). Při porovnání s odbornou literaturou se výsledky ne zcela shodují, pokud jde o nárůst nebo naopak inhibici bakteriální populace po expozici elektromagnetických vln. Je proto důležité tuto problematiku neustále studovat. Také si musím být vědomi případných žádoucích či nežádoucích účinků na organismy.

Klíčová slova: elektromagnetické pole, mikrobiální populace, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, mikrovlny

Abstract

This bachelor thesis is to examine the effects of electromagnetic fields on microbial populations, particular on bacteria of the genus *Micrococcus luteus* and *Escherichia coli*. Based on practical laboratory experiments it was shown that the electromagnetic field has the dual effect of a bacterial population. The first is the effect of electromagnetic fields on the colonization ability of cells (bacterial population growing on agar grow to larger sizes). The second effect is the effect of electromagnetic fields on the reproductive activity of bacterial populations (by fluorescent observations were demonstrated higher frequency of microorganisms). When compared with literature results do not match. We increase or conversely inhibition of bacterial population after exposure to electromagnetic waves. It is therefore important to study this problem continually. Also, you need to be aware of potential desirable or undesirable effects on organisms.

Key words: electromagnetic field, microbial population, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, microwaves

Obsah

Seznam použitých zkratk	10
1 Úvod	12
2 Elektromagnetické pole	13
2.1 Úvod do mikrovlnné techniky.....	13
2.2 Základní pojmy	14
2.3 Maxwellovy rovnice.....	15
2.4 Elektromagnetická vlna.....	17
2.4.1 Vlnová rovnice	18
2.4.2 Poyntingův vektor	19
2.5 Šíření elektromagnetické vlny.....	20
2.5.1 Útlum elektromagnetické vlny.....	21
2.5.2 Odraz elektromagnetické vlny	21
2.6 Hloubka vniku	22
2.7 Pravoúhlý vlnovod	22
2.8 Elektromagnetické pole působící na člověka	23
2.9 Mikrovlny v biologii	25
3 Bakterie.....	27
3.1 Stavba bakterií.....	27
3.2 Růst a množení bakterií.....	28
3.2.1 Faktory ovlivňující růst bakterií	29
4 Použití elektromagnetického pole	30
4.1 Použitý přípravek	30
5 Použité bakterie	31
5.1 Escherichia coli	31
5.2 Micrococcus luteus.....	33
6 Použité materiály a metody	35
6.1 Množení bakterií	35
6.2 Metoda fluorescenčního barvení	37
6.3 Absorbance.....	38
6.4 Kultivační media	38

7	Výsledky a diskuze.....	40
7.1	Umístění vzorků na vlnovod	40
7.2	Umístění vzorků ve vlnovodu	43
8	Závěr.....	46
	Seznam bibliografických citací.....	47
	Seznam příloh	52
	Příloha A - CD	52
	Příloha B.....	52
	Seznam tabulek	53

Seznam použitých zkratek

MR	Maxwellovy rovnice
UHF	ultra high frequency = ultra vysoká frekvence
SHF	super high frequency = super vysoká frekvence
\vec{V}	vektor
φ / Φ	jednadvacáté písmeno řecké abecedy (fi)
μ	permeabilita prostředí [$H \cdot m^{-1}$]
μ_0	permeabilita vakua [$4\pi \cdot 10^{-7} H \cdot m^{-1}$]
μ_R	relativní permeabilita
ε	permitivita prostředí [$F \cdot m^{-1}$]
ε_0	permitivita vakua [$8,85 \cdot 10^{-12} F \cdot m^{-1}$]
ε_R	relativní permitivita [$\varepsilon_R > 1$]
γ	konduktivita (měrná elektrická vodivost) [$S \cdot m^{-1}$]
\vec{H}	vektor intenzity magnetického pole [$A \cdot m^{-1}$]
\vec{J}	vektor hustoty vodivého proudu [$A \cdot m^2$]
\vec{D}	vektor elektrické indukce [$C \cdot m^{-2}$]
\vec{E}	vektor intenzity elektrického pole [$V \cdot m^{-1}$]
\vec{B}	vektor magnetické indukce [T]
\vec{N}	Poytingův vektor [$W \cdot m^{-2}$]
Δ	Laplaceův skalární operátor (Laplacián)
ρ	objemová hustota volného náboje [$C \cdot m^{-3}$]
ρ	rezistivita, měrný elektrický odpor [$\Omega \cdot m$]

$\hat{E}(z, t)$	okamžitá hodnota časově a prostorově proměnného elektrického pole v okamžiku t a v bodě z
ω	úhlová rychlost [$rad \cdot s^{-1}$]
π	matematická konstanta [$\doteq 3,14$]
f	frekvence [Hz]
Z_0	vlnová impedance [Ω]
δ	vzdálenost od rozhraní
β	činitel tlumení
DNA	deoxyribonukleová kyselina
RNA	ribonukleová kyselina
pH	(z anglického potential of hydrogen), též vodíkový exponent
USB	univerzální sériová sběrnice
MV	označení mikrovln
SL	označení kontroly
A	absorbance
T	transmitance
I	intenzita světla prošlá vzorkem [Lx]
I_0	intenzita světla, která vstoupila do vzorku [Lx]
EKG	elektrokardiografie
EEG	elektroencefalografie

1 Úvod

Působení a vliv elektromagnetického pole se projevuje všude kolem nás, setkáváme se s ním neustále. Elektromagnetická pole jsou uměle vytvářena člověkem od rozvoje průmyslové revoluce, ale existují i pole vytvořená přírodou (geomagnetické, gravitační interakce dvou těles).

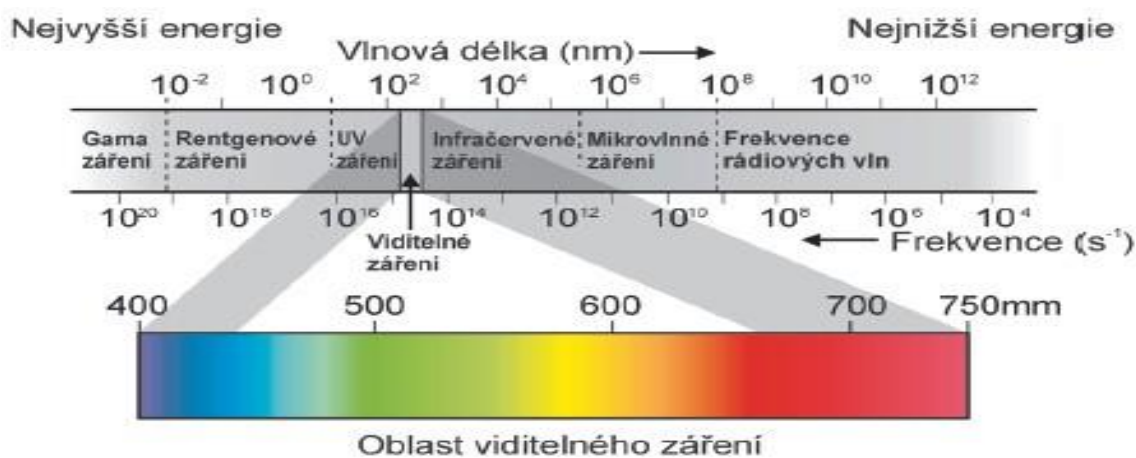
Díky všeobecnému rozšíření elektromagnetických polí je nutné také prozkoumat jejich interakci s prostředím i živými organismy. Jelikož se neustále objevují rozporuplné výsledky zkoumání těchto polí, je nebytné je kontinuálně sledovat zkoumat a ověřovat dané hypotézy.

Je velice důležité zjistit a dále se zabývat tím, jak tato pole působí zvláště na živé organismy, abychom mohli zabránit případným nežádoucím vlivům nebo naopak najít další způsob jak podporovat existenci či aktivitu biologické populace.

2 Elektromagnetické pole

2.1 Úvod do mikrovlnné techniky

Z historického pohledu bylo elektromagnetické záření objeveno již v roce 1886 Jamesem Clerkem Maxwellem. Mikrovlny jsou částí elektromagnetického spektra a objev jejich tepelných účinků se datuje do poloviny 40. let 20. století. Tenkrát si zaměstnanec firmy, která vyráběla radary, všiml, že se mu v kapse roztála čokoláda. Po dalších experimentech zjistil, že působením mikrovln dochází k ohřevu potravin. Těmito experimenty byl dán vznik pro myšlenku mikrovlnné trouby. Dnes už je to již více než 60 let, kdy mikrovlny našly své uplatnění a to v podobě mikrovlnné trouby a již 60 let jsou využívány v radarové technice [1].



Obrázek 1: Elektromagnetické spektrum [2]

Mikrovlny, jak už bylo zmíněno, jsou částí elektromagnetického spektra (viz obr. 1). Dělíme je na dvě další části a to na mikrovlny s ultra vysokou frekvencí (UHF) a mikrovlny se super vysokou frekvencí (SHF). Rozmezí frekvencí UHF je $3 \cdot 10^8$ - $3 \cdot 10^9$. Jejich vlnová délka se pohybuje v rozmezí 1m - 10cm. U mikrovln SHF se pohybuje frekvence mezi $3 \cdot 10^9$ - $3 \cdot 10^{11}$, vlnová délka toho záření je pak 10cm – 1mm. Oba druhy mikrovln jsou neionizační záření o nízké energii [3].

2.2 Základní pojmy

Pro důsledné pochopení následujících vztahů uvedených v kapitolách 2. 3. – 2. 5. je nutné, abychom znali níže uvedené základní pojmy a matematické operace:

Vektor neboli také vektorová fyzikální veličina je veličina, k jehož určení musíme znát nejen číselnou hodnotu, měřicí jednotku, ale také směr. Vektory označujeme zpravidla s kurzívou se šipkou: \vec{V} .

Derivace - Derivace je základní pojem v diferenciálním počtu, má významnou roli při určování průběhu funkce a získáme z ní směrnici tečny. Dalo by se také říct, že derivace je mírou změny funkce v daném bodě. Derivace se zapisuje pomocí písmena d.

Parciální derivace - Pro funkce více proměnných používáme tzv. parciální derivaci. Za proměnnou se považuje funkce, která se derivuje, ostatní se považují za konstanty. Pro její značení se používá ∂ .

Integrace - Proces integrace funkce je inverzní k procesu derivace funkce. Slouží například k výpočtu obsahu pod křivkou.

Gradient - Gradient definujeme jako diferenciální operátor, jehož výsledkem získáváme vektorové pole vyjadřující směr a velikost změny skalárního pole. V souřadnicovém vyjádření je v daném místě gradientem vektor, jehož složky tvoří jednotlivé parciální derivace. Tato parciální derivace vyjadřuje skalární pole. Jeho zápis je následující [4] (1):

$$\text{grad } \varphi = \frac{\partial \varphi}{\partial x} + \frac{\partial \varphi}{\partial y} + \frac{\partial \varphi}{\partial z} \quad (1)$$

Divergence – Ve vektorovém počtu divergence udává zřídlovost pole. Vektorové pole, jehož divergence je rovna nule, se nazývá nezřídlové pole. V opačném případě se jedná o pole zřídlové. Vektorové pole nejčastěji charakterizujeme pomocí siločar. Siločáry nezřídlového pole nikde nezačínají ani nekončí, tudíž jsou to uzavřené křivky. Divergence vektoru je popsána následujícím vztahem (2), který získáme ze součtu parciálních derivací. Výsledkem je skalár.

$$\text{div } \vec{a} = \frac{\partial a_1}{\partial x} + \frac{\partial a_2}{\partial y} + \frac{\partial a_3}{\partial z} \quad (2)$$

Rotace – Rotace je matematický operátor, pomocí něhož určujeme míru rotace (otáčení) vektorového pole. Pole, pro které platí, že rotace je rovna 0, se nazývá nevírové pole. V opačném případě se nazývá vírovým polem. Výsledkem rotace je vektorové pole (3), jehož složkami jsou výrazy parciální derivace složek výchozího vektorového pole podle souřadnic [5].

$$rot \vec{a} = \left(\frac{\partial a_3}{\partial y} - \frac{\partial a_2}{\partial z} \right) \vec{i} + \left(\frac{\partial a_1}{\partial x} - \frac{\partial a_3}{\partial z} \right) \vec{j} + \left(\frac{\partial a_2}{\partial x} - \frac{\partial a_1}{\partial y} \right) \vec{k} \quad (3)$$

Siločára – Pomocí siločar znázorňujeme magnetické pole. Siločára je myšlená čára, která vyjadřuje směr intenzity magnetického pole. Podle tvaru siločar se fyzikální pole rozdělují na pole zřídlová a vírová. Pole zřídlové je pole, jehož siločáry vystupují nebo vstupují do zdroje. Zřídlovým polem je pole elektrické. Pole vírová jsou pole s uzavřenými siločarami. Vírovým polem je pole magnetické.

Ekvipotenciála – Křivky kolmé na siločáry jsou ekvipotenciály. Množina bodů elektrostatického pole, které mají tentýž potenciál.

2.3 Maxwellovy rovnice

Již v roce 1865 zformuloval James Clerk Maxwell základní rovnice elektrodynamiky, které nesou název po svém objeviteli. Byl to skotský fyzik, jeden z nejvýznamnějších teoretických fyziků a svými pracemi přispěl k rozvoji několika fyzikálních disciplín. Z jeho celoživotních studií vychází i Albert Einstein a mnoho dalších. Mezi jeho další velké zásluhy patří i velmi přesný výpočet rychlosti světla z let 1868-69. Svá celoživotní tvrzení publikoval v roce 1873 ve své knize *Treatis on Electricity and Magnetism*, kde popisuje existenci elektromagnetických vln, které se pohybují ve vakuu rychlostí světla.

Maxwellovy rovnice lze zapsat dvojím způsobem. Můžeme je zapsat buď v integrálním tvaru, kdy popisují elektromagnetické pole v jisté prostorové oblasti nebo v diferenciálním tvaru, kdy popisují určitý bod této oblasti.

Maxwell shrnul své poznatky do 4 základních rovnic (viz tab. 1). MR využívají ke svému popisu materiálové konstanty ε, μ, γ . ε je permitivita, μ je permeabilita a γ vodivost. Řešením MR vypočteme veličiny elektromagnetického pole.

Tabulka 1: Maxwellovy rovnice

Název	Integrální tvar	Diferenciální tvar
1. Maxwellova rovnice	$\oint \vec{H} \cdot d\vec{l} = I + \frac{d\Psi}{dt}$	$rot \vec{H} = \vec{J} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t}$
2. Maxwellova rovnice	$\oint \vec{E} \cdot d\vec{l} = -\frac{d\Phi}{dt}$	$rot \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t}$
3. Maxwellova rovnice	$\oint_S \vec{D} \cdot d\vec{S} = Q$	$div \vec{D} = \rho$
4. Maxwellova rovnice	$\oint_S \vec{B} \cdot d\vec{S} = 0$	$div \vec{B} = 0$

MR jsou v integrálním tvaru sice názorné, je však výhodnější pracovat s jejich diferenciálním tvarem, ve kterém si je následně popíšeme:

1. MR popisuje hustotu proudu, vychází tedy z Ampérova zákona. 1. MR říká, že rotace vektoru intenzity magnetického pole \vec{H} je rovna hustotě vodivého proudu \vec{J} a hustotě posuvného (Maxwellova) proudu $\frac{\partial \vec{D}}{\partial t}$ (4):

$$rot \vec{H} = \vec{J} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \quad (4)$$

Magnetické pole je obecně vírové. Elektrické pole zřídlové.

2. MR popisuje Faradayův indukční zákon nebo-li zákon elektromagnetické indukce. Tato druhá rovnice nám říká, že rotace vektoru intenzity elektrického pole \vec{E} je rovna záporně vzaté časové derivaci magnetické indukce \vec{B} (5):

$$rot \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (5)$$

Elektrické pole je vírové.

3. MR nebo-li Gaussův zákon elektrostatiky popisuje divergenci vektoru elektrické indukce \vec{D} , který je roven objemové hustotě volného náboje ρ (6):

$$\operatorname{div} \vec{D} = \rho \quad (6)$$

Elektrické pole volných nábojů je zřídlové, to znamená, že z kladně nabitých těles vycházejí elektrické indukční čáry a vstupují do záporně nabitých těles. Elektrické indukční čáry jsou tedy neuzavřené.

4. MR vyjadřuje zákon spojitosti magnetického indukčního toku. Poslední rovnice popisuje divergenci vektoru magnetické indukce, který je roven nule (7):

$$\operatorname{div} \vec{B} = 0 \quad (7)$$

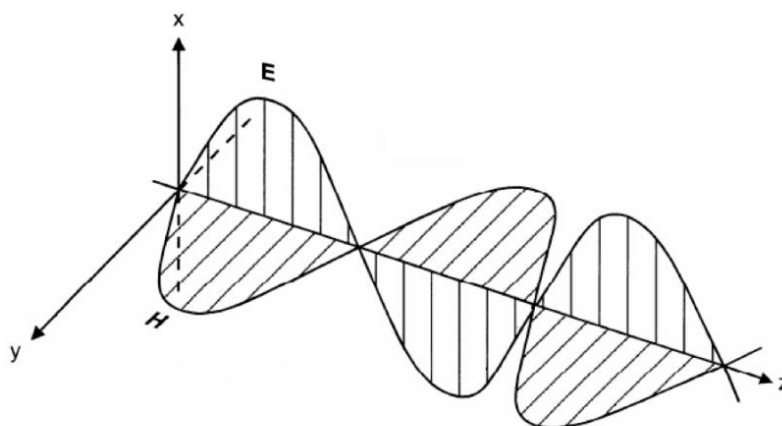
Magnetické pole je nezřídlové. Magnetické indukční čáry jsou uzavřené, neboť neexistuje volná magnetická částice. (Elektrické pole má elektron, magnetické pole nemá svoji volnou částici).

V této části kapitoly si lze prostředí rozdělit na prostředí homogenní, nehomogenní, izotropní, anizotropní, lineární a nelineární. Homogenní prostředí jsou taková, jejichž vlastnosti jsou ve všech místech stejné, nezávisí na prostorové souřadnici. V prostředích nehomogenních je to naopak. Izotropní látky mají vlastnosti nezávislé na směru (např. šíření světla). U anizotropních je tomu obráceně. V lineárním prostředí jsou elektrická indukce a hustota elektrického proudu přímo úměrné intenzitě elektrického pole a intenzita magnetického pole přímo úměrná magnetické indukci. Podle chování látek můžeme dělit magneticky měkké, tj. po vypnutí proudu ztrácí své pole a magneticky tvrdé, které si magnetické pole uchovávají. [6].

2.4 Elektromagnetická vlna

Jak již bylo zmíněno, podstatu elektromagnetických vln vyložil J. C. Maxwell. Dále také přispěl svými poznatky anglický fyzik Michael Faraday. Z jeho teorií vyplývá, že kolem částic s nábojem, které se pohybují se zrychlením, existuje proměnné elektrické pole vyvolávající zároveň i magnetické pole.

Elektromagnetická vlna se skládá ze dvou naprosto neoddělitelných složek a to z elektrické a magnetické (viz obr. 2). Tyto dvě složky jsou na sebe navzájem kolmé a jsou kolmé na směr šíření vlnění. To znamená, že každé elektromagnetické vlnění je příčné. V každém okamžiku v elektromagnetické vlnění vzniká pravotočivá soustava souřadnic. Elektromagnetické vlny se chovají podobně jako světelné záření, a proto pro ně platí stejné zákony pro odraz a lom, a vykazují stejné jevy – interferenci, polarizaci, ohyb atd...



Obrázek 2: Elektromagnetická vlna [7]

Na obrázku se elektromagnetická vlna šíří v kladném směru osy z , do osy x se promítá vektor intenzity elektrického pole \vec{E} a do osy y se promítá vektor intenzity magnetického pole \vec{H} [8].

2.4.1 Vlnová rovnice

Šíření světla, které je speciálním případem elektromagnetických vln, popisuje vlnová rovnice (8) (9), která plyne z Maxwellových rovnic. Vycházíme ale z předpokladu, že máme lineární, izotropní a homogenní prostředí, bez nucených sil a bez nábojů. Pak platí následující rovnice:

$$\Delta \vec{E} - \mu\gamma \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} - \mu\epsilon \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} = 0 \quad (8)$$

$$\Delta \vec{H} - \mu\gamma \frac{\partial \vec{H}}{\partial t} - \mu\epsilon \frac{\partial^2 \vec{H}}{\partial t^2} = 0 \quad (9)$$

Jsou to rovnice vektorové, tj. každá představuje tři skalární rovnice pro tři složky. Pokud prostředí je dokonalé dielektrikum, dosazením za $\gamma = 0$ se rovnice zjednoduší na [9] (10):

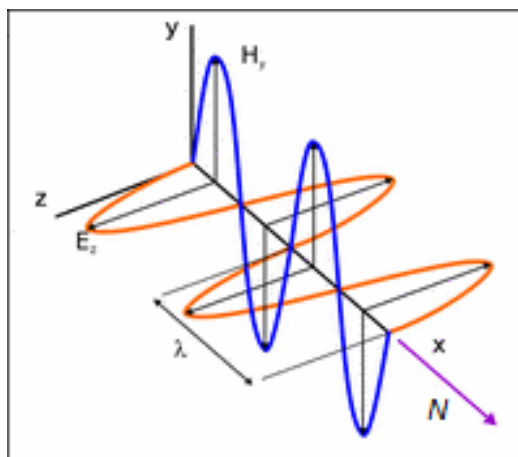
$$\Delta \vec{E} - \mu\epsilon \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} = 0 \quad (10)$$

2.4.2 Poyntingův vektor

Matematicky vyjádříme Poyntingův vektor jako součin vektorů intenzity elektrického a magnetického pole (11):

$$\vec{N} = \vec{E} \times \vec{H} \quad (11)$$

Směr vektoru je totožný se směrem šíření energie (viz obr. 3). Poyntingův vektor tedy vyjadřuje hustotu toku elektromagnetického výkonu v daném bodu pole. Poyntingův vektor ukazuje, že se energie nepřenáší vodiči, ale prostorem kolem nich. Ve vodiči je totiž nulová intenzita elektrického pole a tedy i nulový Poyntingův vektor [10].



Obrázek 3: Poyntingův vektor [11]

2.5 Šíření elektromagnetické vlny

Elektromagnetické vlnění je šíření elektromagnetického pole prostorem. Je dáno vektorem elektrické a magnetické intezity. Je nutné konstatovat, že s jakýmkoliv postupným vlněním je vždy spojen přenos energie v prostoru.

Rychlost šíření elektromagnetického vlnění závisí na prostředí, kterým se vlnění šíří. Vlastnosti prostředí jsou dány třemi základními materiálovými konstantami ε, μ, γ , které již byly zmíněny v kapitole 2.2.1. Permittivita se počítá se vztahu (12):

$$\varepsilon = \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_R \quad (12)$$

kde $\varepsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12} \text{ F} \cdot \text{m}^{-1}$ a ε_R je relativní permitivita, jejíž hodnoty jsou $\varepsilon_R > 1$.

Hodnoty permeability získáme vypočtením ze vzorce (13):

$$\mu = \mu_0 \cdot \mu_R \quad (13)$$

přičemž $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7} \text{ H} \cdot \text{m}^{-1}$.

Poslední konstantu a to konduktivitu nebo-li měrnou elektrickou vodivost vypočteme z převrácené hodnoty rezistivity nebo-li měrného elektrického odporu (14):

$$\gamma = \frac{1}{\rho} \quad (14)$$

Rychlost šíření elektromagnetické vlny je obecně dáno vztahem (15):

$$v = \frac{1}{\sqrt{\mu\varepsilon}} \quad (15)$$

Ve vakuu je tedy rychlost šíření $3 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ [10]

2.5.1 Útlum elektromagnetické vlny

Každá vlna jako součást elektromagnetického spektra je popsána následujícím vztahem (16):

$$\hat{E}(z, t) = E_0 e^{j(\omega t - \frac{\omega}{v} z)} \quad (16)$$

kde $\hat{E}(z, t)$ je okamžitá hodnota (amplituda) časově a prostorově proměnného elektrického pole v okamžiku t a v bodě z . E_0 je amplituda. Symbol j značí imaginární jednotku. Hodnotu ω vypočítáme ze vztahu $\omega = 2\pi f$ a v je rychlost šíření vlny.

Rychlost útlumu jakéhokoliv vlnění je exponencionální [12].

2.5.2 Odraz elektromagnetické vlny

V této části kapitoly si připomeneme dva druhy odrazů vlnění. Dochází buď ke kolmému dopadu vlnění nebo k dopadu pod určitým úhlem.

Při kolmém dopadu se vlnění odráží zpět ke zdroji. Interferuje s postupujícím vlněním a vzniká stojaté vlnění. Z následující rovnice plyne (17), že charakteristická impedance Z_0 se vypočte poměrem permeability ku permitivitě prostředí:

$$Z_0 = \sqrt{\frac{\mu_0}{\epsilon_0}} \quad (17)$$

Elektromagnetické vlnění, které dopadá na vodivou překážku pod určitým úhlem, se odráží podle zákona odrazu. Zákon odrazu vlnění zní: Úhel odrazu je roven úhlu dopadu. Jsou-li rozměry překážky větší než vlnová délka, vlnění nepronikne za překážku a odráží se. Jsou-li rozměry překážky malé vzhledem k vlnové délce, vlnění za překážku proniká, avšak část energie vlnění se i v tomto případě odráží [10].

2.6 Hloubka vniku

Hloubkou vniku rozumíme vzdálenost od povrchu materiálu, kam prostoupí elektromagnetická vlna a přemění se na teplo. Velikost hloubkou vniku udává (18), v jaké vzdálenosti klesne v daném materiálu amplituda na 1/e-tinu jejich povrchových hodnot. E je Eulerovo číslo (základ přirozených logaritmů).

$$\delta = \frac{1}{\beta} = \sqrt{\frac{2}{\omega\mu_0\gamma_2}} \quad (18)$$

δ je vzdálenost od rozhraní a β je činitel tlumení, který vypočteme z rovnice (19):

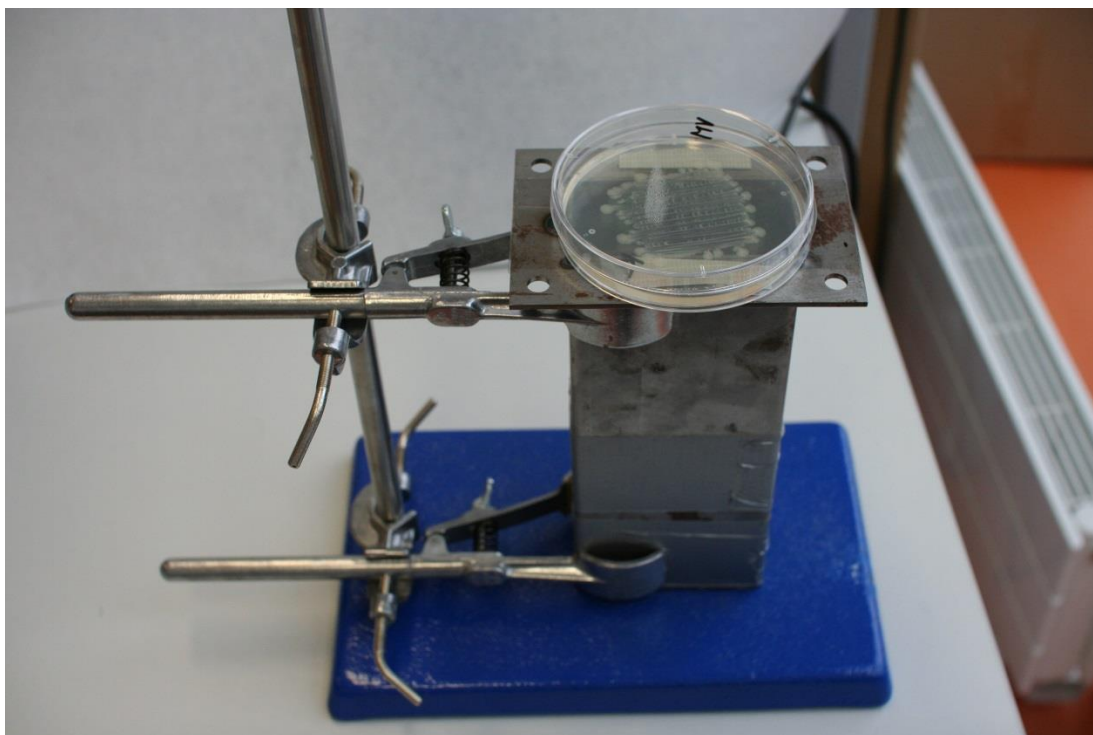
$$\beta = \sqrt{\frac{\omega\mu_0\gamma_2}{2}} \quad (19)$$

Útlum elektromagnetických vln je v každém prostředí různý. Např. vysokofrekvenční elektromagnetické pole se ve vodivých materiálech rychle tlumí. Vždy záleží na frekvenci a materiálu [10].

2.7 Pravoúhlý vlnovod

Elektromagnetické vlnění se volně šíří v otevřeném prostoru, můžeme ale také využít uzavřených vedení. Jako uzavřená vedení považujeme vlnovod, koaxiální a pásková vedení a další. V mé práci používáme vlnovod (viz obr. 4), proto se blíže zaměříme na tento typ.

Za vlnovod považujeme kovovou konstrukci s libovolným tvarem. Bývá konstruován z kovových materiálů. V mém případě využijeme kovový obdélníkový vlnovod. Obzvláště užitečné jsou vlnovody pro frekvence od stovek MHz do stovek GHz. Vlnovodem se zároveň šíří i energie [13].



Obrázek 4: Vlnovod

2.8 Elektromagnetické pole působící na člověka

Stále častěji diskutovaným tématem je neionizující záření, celosvětově se vžil název elektrosmog. Elektrosmog jako zátěž životního prostředí vyvolává stále obavy veřejnosti, jeho tempo růstu je alarmující. Již dlouhou dobu jsou v provozu kolem nás mobilní sítě s kmitočty 900MHz a 1800MHz. Budují se bezdrátové sítě Wi-Fi, mikrovlnné sítě a další. V roce 2005 bylo zahájeno digitální vysílání televize a rozhlasu. Rozmach mobilní revoluce je tedy obrovský.

V dnešní době se stále více projektují bezdrátové domácnosti a v souvislosti s nimi přišli stavební biologové v Německu na to, že v takových domech se nedá spát, a při projektování respektují velmi přísné limity v místnostech pro spaní.

Stávající legislativní normy bohužel umožňují, že provozovatelé bezdrátových technologií nemají prakticky žádná omezení, bude nadále docházet ke stále většímu znečištění životního prostředí. Mezi legislativní normy definující působení elektromag-

netického pole na organismus upravuje Zákon o elektronických komunikacích [14] a vládní nařízení č. 480/2000 Sb [15].

První epidemiologická studie zaměřená na elektromagnetické vlnění pochází z roku 1979. Poukazuje na vznik rakoviny u dětí žijících v domácnostech, kde byly dlouhodobě vystaveny vysokým hodnotám expozice elektromagnetismu. U těchto dětí byl vznik leukémie a lymfomů dvakrát až třikrát vyšší [16]. Existuje také studie, která zkoumá možné zvýšení rizika vzniku leukémie u dospělých po expozici elektromagnetického vlnění [17].

Pokud se dlouhodobě ignorují problémy s rušením větším než 6 V/m, zdravotní rizika přecházejí v onemocnění (viz současné vleklé soudní spory v Itálii, kde došlo, prokazatelně vlivem elektrosmogu, v obci Cesamo k 19 případům onemocnění dětskou leukémií) [18].

Samozřejmě existují i jiné studie, některé riziko rakovinných bujení potvrzují, jiné vyvracejí. Vždy se studie liší při stanovení doby expozice záření a její intenzitou. Studie, kde vědci dochází k závěru, že expozice magnetického pole nezvyšuje riziko vzniku rakovinu prsu u žen [19]. Dále také ani skupina McElroyové nezjistila zvýšené riziko vzniku rakoviny endometria při používání elektrických deček, matrací [20].

Studovaným efektem nejsou jen různé druhy rakovinného bujení. Dalším záporným důsledkem vlivu elektromagnetického vlnění je možnost vzniku Alzheimerovy choroby [21]. Konkrétně pro mikrovlnné pásmo je zaznamenán vzrůst počtu postižených některým druhem rakovinného bujení u vojenských radarů [22] [23].

Hodnota elektromagnetického záření je stanovena pro domácnosti hodnotou do 3 V/m. Dle platného vládního nařízení 480/2000 Sb. jsou schopni lidé zvládnout vliv expozice až 61 V/m. To platí v kmitočtovém pásmu 2 000-10 000 MHz. Čili odolnost osob podle hygieniků by měla být až desetinásobná oproti elektronickým zařízením.

Přístroj, který umožňuje měření maximální i minimální hodnoty elektromagnetického pole, se jmenuje spektrální analyzátor (viz obr. 5). Je vybaven výstupem s možností připojení k počítači přes USB a je možné zobrazit spektrogram sledovaného pásma. V přístroji jsou rovněž zabudovány mezní limity podle norem ICNIRP, což je vládní nařízení č. 480/2000 Sb., ekologické mezní limity, biologické limity pro interiér [18].



Obrázek 5: Spektrální analyzátor [24]

2.9 Mikrovlny v biologii

Existuje celá řada studií, která se zabývá účinky mikrovln na živé organismy. Jedním z nich je studie [25], která zkoumá vliv mikrovln na *Salmonella typhimurium*. V této studii používají stejnou frekvenci pole (2,4 GHz), liší se ale vyzařovaným výkonem 90W. Vzorek *S. typhimurium* byl vložen do skleněné trubice a následně do pece, kde byl vystaven účinku mikrovln. Expozice trvala vždy několik sekund (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 a 100 s). Za účelem zjištění účinků mikrovln na membráně *S. typhimurium* bylo zahájeno zkoumání jejich vlivu na růst bakterií. Analýza ukázala, že mikrovlny působí baktericidní účinek inhibicí buněčného růstu a to nezvratný. Jedním z vysvětlení je absorpce mikrovlnné energie mikroorganismem, která má za následek jeho inaktivaci [26].

Mezi hlavní teorie, které se snaží vysvětlit biologické účinky mikrovln, jsou založeny na možných účincích propustnosti iontových kanálů v membráně [27]. Další analýza celkového lipidové složení bakteriální membrány v *S. typhimurium* po vystavení mikrovlnného záření ukázala kvantitativní změny v poměru nasycených a nenasyce-

ných mastných kyselin. Studie také naznačují vztah mezi tekutostí membrány bakterií a zdůrazňuje význam mastných kyselin při zachování tekutosti membrány [28].

Za předpokladu, že elektromagnetické pole je zodpovědné za produkci volných radikálů v buňkách, mikroorganismy zvyšují svojí antioxidantní ochranu. Studie prokázala zvýšení aktivity desaturázy mastných kyselin, které mohou být považovány jako mechanismus reakce, která spotřebovává kyslík a snižuje tím volné radikály v poškozených buňkách [29].

3 Bakterie

3.1 Stavba bakterií

Bakterií nazýváme jednobuněčné prokaryotické organismy. Prokaryota jsou vždy jednobuněčné organismy, které jsou evolučně velmi staré. Mívají kokovitý či tyčinkovitý tvar. Koky dále dělíme na monokoky, diplokoky, stafylokoky, streptokoky a sarciny. Bakterie jsou nejrozšířenější skupinou organismů na světě.

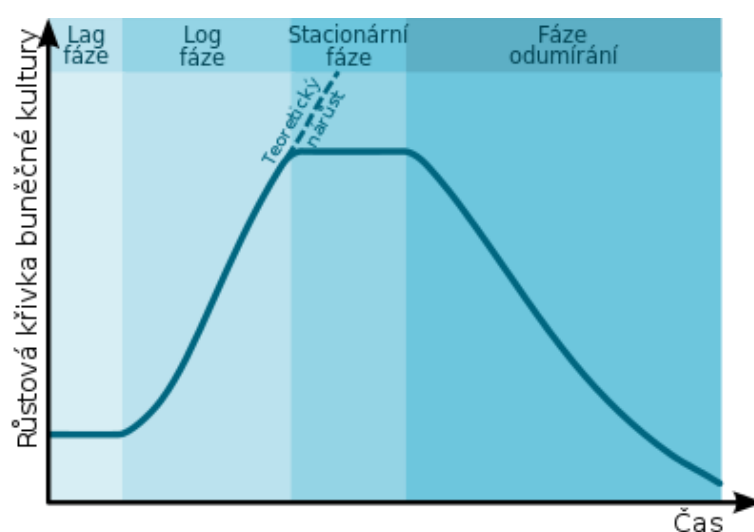
Prokaryotické buňky se vyznačují určitými znaky, např. jejich cirkulární DNA, která je uložena volně v cytoplasmě. Jejich cytoplazma není rozčleněna na kompartmenty. Dále je v nich přítomen nukleoid, obdoba jádra u eukaryot. Prokaryota jsou chráněna buněčnou stěnou, která obsahuje peptidoglykany. Bakteriální buňka obsahuje též ribozomy, cytoplasmatickou membránu či plazmidy, které většinou buňce přinášejí určitou výhodu.

Podle struktury buněčné stěny můžeme bakterie rozdělit na grampozitivní a gramnegativní. Liší se stavbou, ale společným znakem je přítomnost peptidoglykanu. Grampozitivní označuje skupinu bakterií, které pomocí Gramova barvení získají modrou barvu. Stěna bakterií je tlustší, protože je tvořena silnou vrstvou peptidoglykanu, který je uspořádaný ve více vrstvách a je navzájem propojený. Dává buňce pevný a konstantní tvar. Stěnou prostupuje kyselina teichoová. Je to hlavní povrchový antigen, jehož funkcí je navázání kationtů Mg^{2+} a Ca^{2+} . Také (až na výjimky) u nich ve stěně nejsou lipidy [30]. Gramnegativní bakterie se oproti grampozitivním barví růžově. Jejich stěna se skládá z vnější membránové vrstvy a vnitřní pevné peptidoglykanové vrstvy. Vnější třívrstevná membrána obsahuje proteiny, lipopolysacharidy a lipoproteiny. Stěna je tenčí, ale zato složitěji uspořádaná než u bakterií grampozitivních. Mají méně propojenou vrstvu peptidoglykanu [31].

Prokaryotické organismy mohou být jak heterotrofní tak autotrofní. Můžeme je také rozdělit podle toho, kde žijí na bakterie žijící v půdě, vodě a vzduchu. Osídlují tedy všechny typy prostředí, žijí a prospívají v širokém rozmezí teplot, přežívají vysoké hodnoty radiace. Bakteriální spory mohou zůstat životaschopné mnoho let [32].

3.2 Růst a množení bakterií

Mechanismem růstu je u bakterií syntéza všech komponent těla, čímž se zvyšuje hmotnost i objem jedince. Po dosažení určitých rozměrů se bakterie rozdělí metodou podvojného dělení, což je typ nepohlavního rozmnožování. Jejich množení je exponenciální. Doba potřebná k rozdělení jedné buňky na dvě je v rozmezí 0,5 – 6h. Při dostatečném počtu bakterií v dané populaci lze mluvit o kolonii. Počet živých buněk v závislosti na stáří kultury ukazuje růstová křivka (viz obr. 6).



Obrázek 6: Růstová křivka [33]

Růstovou křivku můžeme rozdělit na 4 základní stádia:

1. Lag – fáze – začíná ihned po přenosu do media. Začátek syntézy enzymů, zvětšování objemu a začátek dělení buněk zatím s nestálou rychlostí.
2. Exponenciální (logaritmická) fáze – probíhá intenzivní množení bakterií a populace dosahuje exponenciálního růstu. V mediu je nadbytek živin a minimum zplodin jejich metabolismu. Exponenciální fáze trvá, dokud není vyčerpáno množství živin
3. Stacionární fáze – postupně se v této fázi zpomaluje rychlost množení buněk, až do stádia rovnováhy. Medium obsahuje maximum bakterií. Zvyšuje se množství odpadních produktů.
4. Fáze odumírání – autolýza – indukují se enzymy, které destruuji buněčnou stěnu. Kinetika této fáze je různá, většinou bývá rychlost hynutí konstantní [34].

3.2.1 Faktory ovlivňující růst bakterií

Je důležité připomenout, že bakterie k růstu a množení potřebují optimální podmínky. Zaměříme se pouze na námi použité bakterie *E. coli* a *M. luteus*. Prvním kritériem je dostupnost živin. Uvádí se, že intenzita růstu a množení mikroorganismů je tím vyšší, čím vyšší je nabídka živin a čím jsou živiny lépe dostupné. Dalším kritériem je teplota. Obě dvě naše bakterie vykazují ideální růst při teplotách 37°C. Třetím kritériem je množství volné vody využitelné pro mikroorganismy. Čtvrté kritérium je pH. Bakterie *E. coli* přežívá v trávicím traktu při pH 6 – 8. *M. luteus* vyžaduje kyslejší prostředí a to pH 4 – 6. Poslední kritérium záleží na hodnotě kyslíku. V tomto případě rozdělujeme bakterie na aerobní a anaerobní [35].

4 Použití elektromagnetického pole

4.1 Použitý přípravek

Pro experiment používáme vlnovod, jímž proudí mikrovlny. Sestrojeno z vlnovodu, do kterého je přivedena anténa vysílající mikrovlny. Anténa je připojena k WIFI transmitteru (viz obr. 7), ten je dále připojen kabelem USB k počítači. V počítačovém program X-ctu generujeme pulsní signály (viz obr. 8), konkrétně jsou vysílány 1x za 100 ms. Na vrchní straně vlnovodu je umístěná Petriho miska, na níž jsou kultivované bakterie. V druhé části práce byla přímo do vlnovodu umístěna zkumavka s roztokem bakterie.



Obrázek 7: WIFI transmitter



Obrázek 8: PC program X - CTU

5 Použité bakterie

5.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli je gramnegativní bakterie, která má tyčinkovitý tvar. Tento druh bakterie je zařazen do kmene Proteobacteria, čeledi Enterobacteriaceae. Jedná se o bakterii fakultativně anaerobní, tj. využívá respirační i kvasný metabolismus pro přísun energie. Jedná se o parazita, jenž se živí zbytky potravy svého hostitele. Její rozměry dosahují délky $2\mu\text{m}$, široká bývá $0,5\mu\text{m}$. Pohybuje se pomocí bičíku. Na svém povrchu nese dva typy fimbrií. Tolerují teploty od $10 - 46^{\circ}\text{C}$. Optimální růst však vykazují při teplotě 37°C . Rozsah ideálního pH pro růst je pH6 - pH8. *Escherichia coli* je tedy běžnou bakterií vyskytující se v trávicím traktu teplokrevných organismů. U člověka se vyskytuje konkrétně v tlustém střevě a dolní části tenkého střeva.

Člověku je jako součást přirozené mikroflóry prospěšná, protože produkuje koliciny, tj. látky bránící rozšíření nežádoucích bakterií. Velmi významný má vliv na tvorbě některých vitamínů (např. vitamin K). Tato velmi prospěšná bakterie osidluje normálně během 40 hodin po porodu zažívací trakt novorozенých dětí. Zpravidla bývá první bakterií, která zažívací trakt osídlí.

Jak již bylo zmíněno, bakterie je zdraví prospěšná, avšak vyskytuje se několik jejích kmenů, které mohou být patogenní. K patogenitě dochází při přemnožení bakterií nebo výskytu na jiných místech. Patogenní kmeny mohou způsobit dva typy onemocnění. Prvním z nich jsou extraintestiální onemocnění. Často se bakterie vyskytují v krevních vzorcích, což může být příčinou bakteriémie. Často také způsobuje nosokomiální infekce. Dále bývá původcem zánětů močových cest, může také způsobovat záněty žlučových cest, meningitidy. V nejhorším případě způsobí peritonitidu, což bez akutního lékařského zákroku je smrtelný stav.

Druhý případ onemocnění *E. coli* jsou intraintestiální formy, kdy zapříčiní průjemová onemocnění. Průjemová onemocnění mají u dětí rychlý nástup a velmi rychle dochází k dehydrataci. Intraintestiální formy můžeme dělit na další druhy dle

produkujícího toxinu na enterotoxické, enteroinvazivní, enteropatogenní, enterohemoragické a enteroaggregativní. Tyto bakteriální infekce se léčí pomocí antibiotik.

Výskyt *E. coli* není omezen jen na živočichy, dobře přežívá v okolí mimo tělo. Využívá se jako indikátor fekálního znečištění vody. Za zdroj infekcí bývá tedy považována voda, výrobky ze syrového mléka a maso i mastné výrobky. Neměli bychom zapomínat, že touto bakterií se můžeme nakazit při cestování do rozvojových zemí. Prevencí před nákazou je proto zejména důkladná hygiena, skladování potravin v chladu a tepelná úprava potravin min. na 70°C.

Kultivačně je *E. coli* nenáročná, roste rychle na mnoha různých substrátech. K její izolaci se nejčastěji využívá živný agar. Po kultivaci na živném agaru rostou kolonie bílého zbarvení (viz obr. 9). Tato izolace byla využita v této bakalářské práci.

Protože je její genetika velmi jednoduchá, je jedním z nejlépe prostudovaných a nejčastěji používaných modelových organismů, jak při laboratorních výzkumech, tak při mikrobiologických biotechnologiích. Byla totiž objevena už v roce 1885. Mezi její klady patří rychlý růst, což je jedním z důvodů použití v této bakalářské práci [36].



Obrázek 9: Escherichia coli

5.2 *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus je grampozitivní vysoce pohyblivá bakterie. Má kulovitý tvar, tedy to jsou koky zpravidla uspořádané v tetrádách. Je obligátně aerobní. Patří do kmene Actinobacteria čeledi Micrococcaceae. Jeho buňky mají asi 0,5-3 μm . Většinou se nachází v prostředí, kde se udržuje teplota kolem 37 ° C.

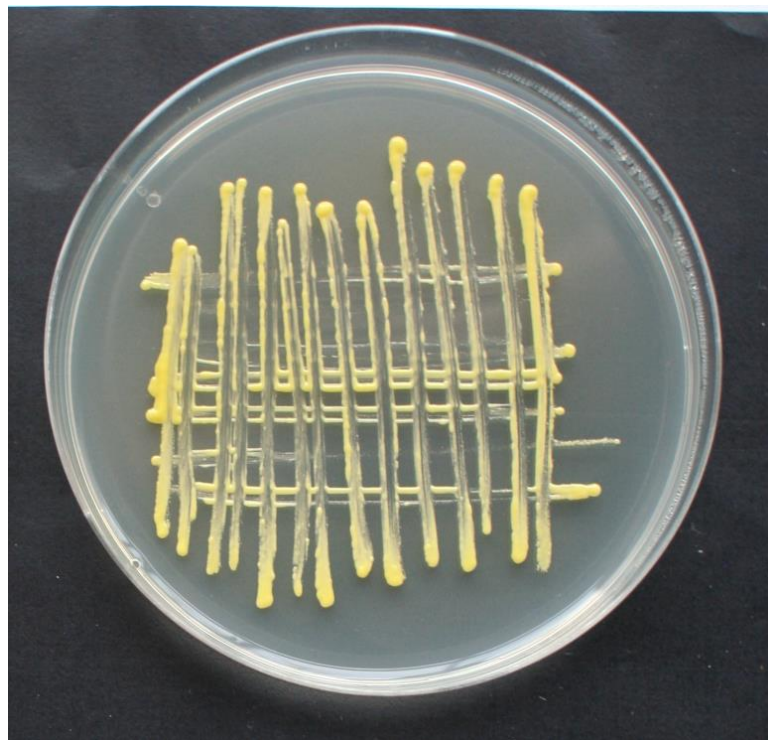
Jednou z významných vlastností je, že je to saprofág. Znamená to, že získává energii z organických látek odumřelých organismů. Další je vlastností je komenzalizmus, což je biologická interakce, mezi dvěma organismy, kdy jeden má ze vztahu prospěch, zatímco druhý není ovlivněn.

Vyskytuje se jako součást běžné flóry pokožky savců, osidluje také ústa, sliznice, orofaryngu a horní cesty dýchací. Je známo, že způsobuje zápach u lidí, díky jeho schopnosti štěpit složky potu. Sekundárně se vyskytuje v mléčných a jiných živočišných produktech i v pivu. Druhy rodu *Micrococcus* se také vyskytují v různých prostředích včetně vody, prachu a půdy. Podílí se také na detoxikaci nebo biodegradaci mnoha dalších látek znečišťujících životní prostředí. Důležitý je i pro nakládání s toxickými odpady. Bylo zjištěno, že v kontaminované půdě může snížit ftaláty, uhlovodíky a olefinické sloučeniny.

M. luteus není nijak zvlášť nebezpečný, avšak může vyvolávat onemocnění, především u pacientů se sníženou imunitou nebo u novorozenců. Mikrokoky mohou být zapojeni u imunosupresivních pacientů do jiných infekcí, včetně opakujících se bakteriemií, septických šoků, septických artritid, endokarditid, meningitid a pneumonie. Také může způsobit kožní infekce.

Dobře roste na běžných živých půdách. Tvoří jasné žluté kolonie na živném agaru (viz obr. 10). Může se ale tvořit i oranžové až růžové kolonie, což je způsobeno karotenoidními barvivy, přítomnými v jejich buňkách. Tato barviva chrání buňky před letálními účinky ultrafialové složky slunečního záření. Mikrokoky dobře rostou v prostředí s malým množstvím vody a vysokou koncentrací solí. Studie, kterou vypracovali Greenblat a spol. na základě analýzy RNA dokazuje, že *M. luteus* je schopen přežít 34000 až 170 000 let.

Byl objeven panem Alexandrem Flemingem v roce 1928, tedy ještě než pan Fleming objevil penicilin. Je druh bakterie, který se často používá pro vzdělávací studie [37].

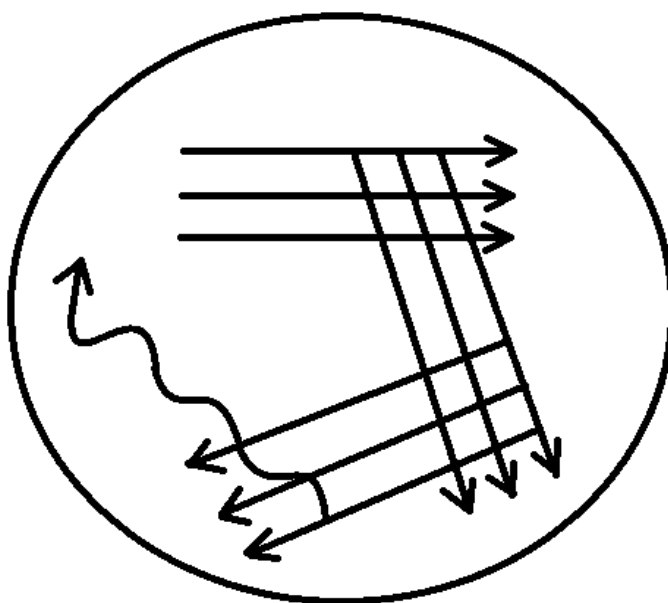


Obrázek 10: - *Micrococcus luteus*

6 Použité materiály a metody

6.1 Množení bakterií

Termín přeočkování bakterií používáme ve smyslu vykultivování bakterií, abychom zachovali stejnou populaci po celou dobu experimentu. Prováděli jsme jej pravidelně každý týden a to jak pro *E. Coli* tak také pro *M. Luteus*. Než začneme s přeočkováním, je důležité, abychom Petriho misky s agarem měli předeřáté, aby se v nich bakterie lépe uchytily. Neočkujeme proto na misky přímo z lednice. Je vhodné misky na půl hodiny před přeočkováním vyndat z lednice nebo je dát na 20 min do termoboxu. Nad plamenem se opálí mikrobiologická klička, aby se spálily případné nečistoty a nechá se vychladnout. Mikrobiologickou kličkou opatrně setřeme kolonie z misky s čistou kulturou a rozetřeme je na novou předeřátou misku s živným agarem. Bakterie rozetřeme tak, jak je to znázorněno na obrázku (viz obr. 11). Misky s nově vykultivovanými bakteriemi jsme vložili do termoboxu, kde se kultivovaly 3-4dny při standardní teplotě 37 °C.



Obrázek 11: Rozetření bakterií při přeočkování

Escherichia coli byla při našem experimentu rozočkována doprostřed Petriho misky s živným agarem. Rozočkovali jsme *E. coli* na 2 misky, jelikož jedna byla položena na vlnovod (označíme MV) a budeme na ní pozorovat účinek mikrovln, druhá poslouží jako referenční miska, která byla uložena mimo dosah mikrovln (SL), jinak je vzorek uchován se stejným prostředím, např. teplota, světlo, tma, aj. V průběhu rozočkování máme na stole otevřenou ještě třetí misku, kde je pouze živný agar (SPAD). Je nutné mít tuto třetí misku otevřenou i v průběhu experimentu. Na misce totiž zachytíme bakterie, které napadaly z okolí a můžeme je pak díky tomu rozeznat i na miskách s *E. coli*. Napadanými bakteriemi mohou být plísňe i spory a obvykle vytvářejí neohraničené struktury, které je důležité odlišit.

Druhá část experimentů probíhala jiným způsobem. Bakterie jsme nechali růst v prostředí sóji. 30ml sóji nalijeme do sterilní kádinky. Z Petriho misek, kde máme vykultivované nejnovější bakterie, setřeme dostatečné množství pomocí sterilní mikrobiální kličky a zamícháme v sóje. Nezapomeneme změřit ihned absorbanci roztoku, a to vzhledem k sóje čisté (nulovací roztok). Připravíme si dvě zkumavky, obě naplníme 10ml sóji a jednu (MV) umístíme do vlnovodu a druhou z dosahu mikrovln. Též nezapomeneme odebrat vzorek na měření počáteční fluorescence. Druhou fluorescenci z obou vzorků děláme na konci experimentu (za 4 dny), v průběhu experimentu měříme ve zkumavkách růstovou křivku.

Micrococcus luteus jsme si na začátku našeho experimentu vykultivovali otiskem z lidské pokožky na krevní agar v Petriho misce. Vzorky byly odebrány v laboratoři CxI – laboratoř biotechnologií Technické univerzity v Liberci, budova L. Jednotlivé osoby otiskly své dlaně a prsty na agar v Petriho misce, otisknuté kožní plochy nebyly předem umyty ani desinfikovány, jelikož jsme chtěli zachovat co největší množství mikroorganismů. Následně byly Petriho misky s krevním agarem ponechány v termoboxu 3 dny při konstantní teplotě 37 °C. Za tuto dobu vyrostly všechny přirozené mikroorganismy, které se na pokožce běžně vyskytují. *Micrococcus luteus* je přirozenou součástí mikroflóry pokožky, avšak ne u každé osoby se vyskytuje, objevil se tedy pouze u některých osob. Na miskách vyrostlo hned několik bakterií, my jsme ale odebrali mikrobiologickou kličkou jen jasně žluté kolonie typické pro tento druh bakterie. Ty jsme dále rozočkovali na další krevní agar a kultivovali při 37 °C v termoboxu. Uplatnili jsme stejný postup při rozočkování jako u *E. coli*.

Na Petriho misky necháme působit mikrovlny po dobu 4 dnů. Doba 4 dnů se nejlépe osvědčila jako ideální čas růstu bakterií, jelikož po 4 dnech je možné bakterie odečítat a dobře hodnotit.

6.2 Metoda fluorescenčního barvení

Jednou z moderních metod pro posouzení životaschopnosti buněk je metoda fluorescenčního značení. Jedná se o snadné monitorování bakteriálních populací. Testy jsou založeny na integritě metabolismu membrány buňky. Buňky s narušenou membránou, které jsou považovány za mrtvé nebo umírající se zbarví červeně, zatímco buňky s neporušenou membránou se zbarví zeleně. Tato technologie dokáže rozlišit buňky snadno a kvantitativně během několika minut i ve smíšené populaci, která obsahuje celou řadu bakteriálních druhů [38].

Barvivo, které v našem případě používáme je propidium jodid, který se váže na DNA bakterie. Fluorescenční barvivo je karcinogenní a mutagenní, proto je nutné pracovat obezřetně a používat dvojité rukavice. Následné vyhodnocení fluorescence probíhalo pod mikroskopem, se zvětšením objektivu 40x.

Látka schopná fluorescence se nazývá fluorochrom. Fyzikální podstata fluorescence spočívá ve vlastnostech elektronového obalu atomů v molekulách fluorochromu. Elektrony těchto látek jsou schopny absorbovat foton excitačního světla, čímž se zvýší jejich energie. Část této nově nabyté energie však elektron po chvíli vyzáří jako foton s nižší energií a tedy delší vlnovou délkou. Protože došlo ke ztrátě energie, je vlnová délka emisního světla vždy delší než vlnová délka světla excitačního (Stokeovo pravidlo) [39].

6.3 Absorbance

Jednou z velice používaných metod ve fotometrii a spektrofotometrii je absorbance. Je to veličina, která udává, jak mnoho světla bylo pohlceno měřeným vzorkem. Absorbanci též nazýváme optickou hustotou. Absorbance je bezrozměrná veličina. Lze ji definovat na základě transmittance jako:

$$A = -\log T \quad (20)$$

kde A je absorbance a T je transmittance nebo-li množství světla určité vlnové délky, které prošlo vzorkem. Transmittanci můžeme též vyjádřit vzorcem:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (21)$$

kde I je intenzita světla, která prošla vzorkem a I_0 je intenzita světla, která do vzorku vstoupila. Množství absorbovaného záření je přímo úměrné koncentraci látky.

Spektrofotometr jako i ostatní přístroje mají omezený rozsah, ve kterém je možné přesně měřit. Proto přístroj musí být kalibrován a kontrolován. Teoretická Nejlepší přesnost pro většinu komerčně dostupné non- laser na bázi nástrojů je v rozmezí od 1...[40]

Hodnocení pomocí parametru absorbance se v mikrobiologických postupech používá především k hodnocení růstové křivky bakteriálních populací (viz. kapitola 3.2). Růstová křivka bakterií v médiu je měřena zákalem, který je přímo úměrný množení bakterií

6.4 Kultivační media

Agar – Agar je polysacharid mořské řasy. Je stabilní při vysokých teplotách. Zkapalňuje nad 95°C, tuhne při 50°C. Většina bakterií ho nedegraduje [34].

Druhým významným kultivačním médiem byl krevní agar (viz obr. 12), na kterém jsme vykultivovali *M. luteus*. Vyrábí se přidáním 5 - 10% defibrinované krve (obvykle ovčí či koňské) k živnému agaru. Většina medicínských bakterií, jak grampozitivních tak gramnegativních, se dá na něm pěstovat a podle míry hemolýzy můžeme kultivované bakterie dále určovat. Přidáním určitých antibiotických látek docílíme selektivního růstu některých skupin bakterií [41].



Obrázek 12: Krevní agar [42]

Sója – nebo-li sójový bujon je médium pro testování klinických a neklinických vzorků. Všestranné kultivační médium s velkou šíří mikrobiologického použití včetně testů sterility. Obsahuje Sojový pepton, Kaseinový pepton, Glukózu, Chlorid sodný, Hydrogen-fosforečnan draselný. PH sójového bujonu je $7,3 \pm 0,2$ [43].

7 Výsledky a diskuze

Výzkumné práce probíhaly v laboratoři biotechnologií, Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, Technické univerzity v Liberci.

7.1 Umístění vzorků na vlnovod

První experiment probíhal na Petriho miskách. Bakterie jsou na tomto typu média pevně uchyceny a nemohou se pohybovat, elektromagnetické pole tedy působí na stejné buňky stejnou intenzitou po celou dobu experimentu. Nejdříve probíhal experiment s *E. coli* (viz obr. 13), provedli jsme dvě opakování. Následně to samé s *M. luteus* (viz obr. 14). Po 4 dnech jsme vždy vzorek MV i vzorek kontrolní vyfotografovali a dále byla provedena analýza obrazu. Díky přesné velikosti Petriho misek je možné získat přesné měřítko a je tedy možné srovnávat jednotlivá měření mezi sebou. Snímky byly zachyceny digitální zrcadlovkou Canon EOS 350D. Analýza obrazu probíhala v programu QuickPHOTO MICRO 2.3, hodnocena byla celková osídlená plocha bakteriálních populací na Petriho misce a velikosti jednotlivých buněčných kolonií.



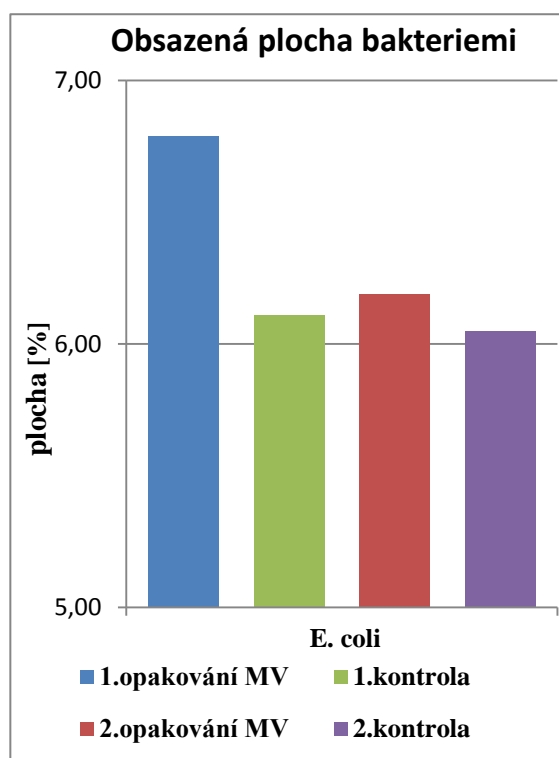
Obrázek 13: MV a kontrola *E. coli*



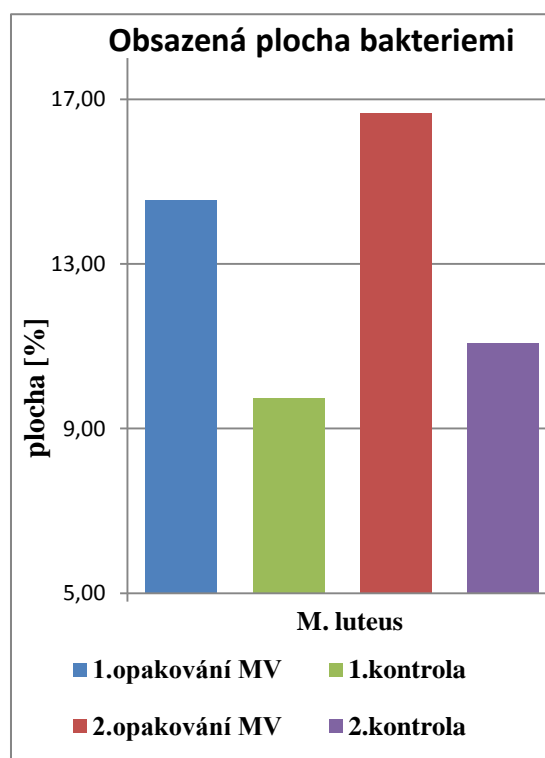
Obrázek 14: MV a kontrola *M. luteus*

Z vyhodnocených dat zpracovaných do formy grafů vyplívá následující – při působení mikrovln na *E. coli* jsme zaznamenali v prvním opakování o 11 % větší nárůst obsazené plochy bakteriemi než u kontroly, při druhém opakování pouze 3% nárůst (viz graf 1). Při působení mikrovln na *M. luteus* je nárůst podstatně vyšší než u *E. coli*. V prvním opakování jsme zaznamenali, že obsazená plocha bakteriemi je o 33 % vyšší při expozici mikrovln než u kontroly. V druhém opakování vyšel nárůst stejný, též o 33 %.

Můžeme tedy uvést s největší pravděpodobností, že na buňky bakterie *E. coli* působí mikrovlnné záření méně, protože jsou odolnější z důvodu jejich neproniknutelné buněčné stěny. *M. luteus* naopak nemá vnější buněčnou membránu, proto na něj záření působí o to více. [44]



Graf 1: Obsazená plocha bakteriemi u *E. coli*



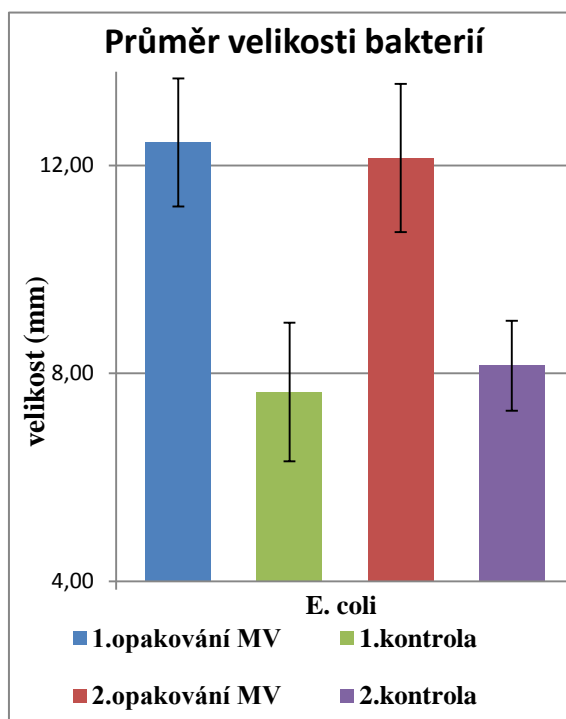
Graf 2: Obsazená plocha bakteriemi u *M. luteus*

Dalším pro nás velmi zajímavým ukazatelem působení mikrovln na bakterie je průměr velikosti bakterií. Z grafu níže vyplívá (viz graf 3), že u *E. coli* pozorujeme nárůst velikostí bakterií o 39 % u Petriho misky vystavené expozici mikrovln. U druhého opakování pozorujeme nárůst o 33 %. Dále se zaměříme na rozdíly u *M. luteus* (viz graf

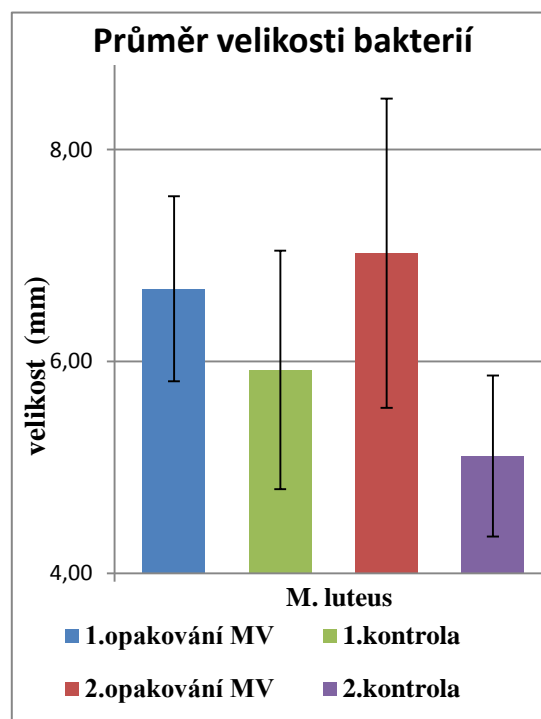
4). U prvního opakování sledujeme u Petriho misky, která byla vystavena expozici mikrovln, nárůst o 12 %. Při druhé opakování můžeme sledovat větší nárůst u expozice mikrovln a to o 27 %.

Je zajímavé si všimnout, že obsazená plocha bakteriemi se signifikantně zvýší při expozici mikrovln působících na *M. luteus*. Naopak prokazatelněji působí mikrovlny na průměr velikosti bakterií u *E. coli*.

V druhém případě při porovnání s jinou literaturou můžeme tvrdit, že mikrovlnné záření působí více na velikosti bakterií, protože buněčná stěna je u *E. coli* tenčí, také mají méně propojenou vrstvu peptidoglykanu. Zdroj uvádí, že síťová struktura je u *M. luteus* hustší z důvodu většího počtu peptidických vazeb, proto je mnohem větší tloušťka stěny. Vysvětluje se tím tedy menší působení na tuto bakterii [45]. Samozřejmě nelze také plně vyvrátit, zda-li nejde o chybu měření, proto se výsledky liší od obsazené plochy bakterií.



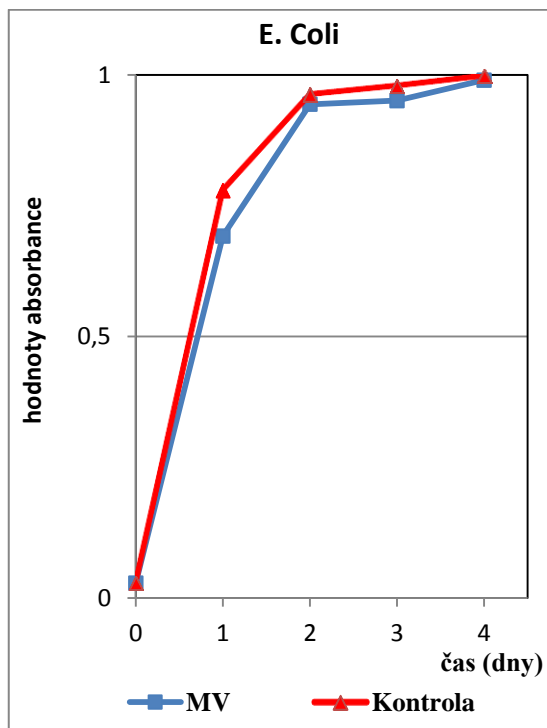
Graf 3: Velikost bakterií *E. coli*



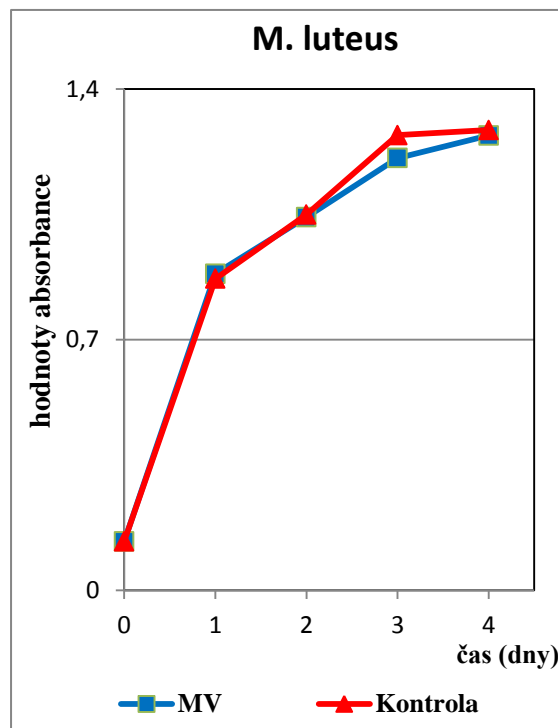
Graf 4: Velikost bakterií *M. luteus*

7.2 Umístění vzorků ve vlnovodu

Druhým způsobem aplikace bakterií do elektromagnetického pole bylo působení mikrovln vzorky umístěné ve zkumavce, která byla vsunuta dovnitř vlnovodu. Bakterie jsou v tomto typu média volně rozptýleny a mohou se pohybovat, elektromagnetické pole tedy působí na stejné buňky s různou intenzitou. Každý den byl odebrán vzorek ze zkumavky a vyhodnotili jsme pomocí absorbance růstovou křivku (viz kap. 6. 3.). Na základě níže uvedených grafů (viz graf 5 a 6) lze pozorovat, že mikrovlny v tomto případě nemají žádný vliv na růst ani u *E. coli* ani u *M. luteus*. Samozřejmě i v tomto případě byla provedena dvě opakování, avšak i v druhém opakování byly naměřeny identické výsledky.



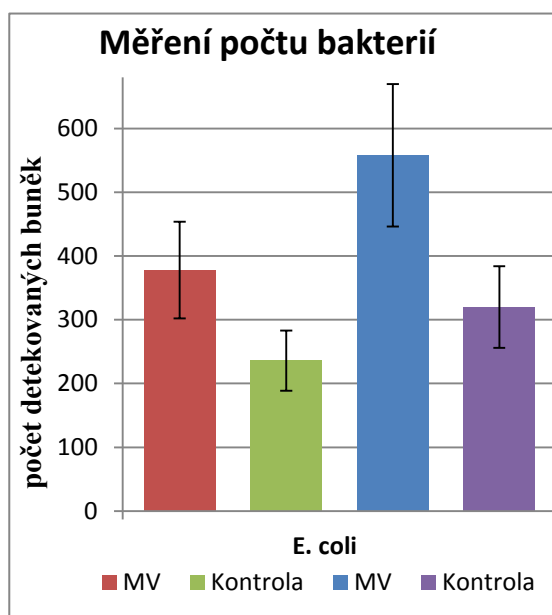
Graf 5: Absorbance u *E. coli*



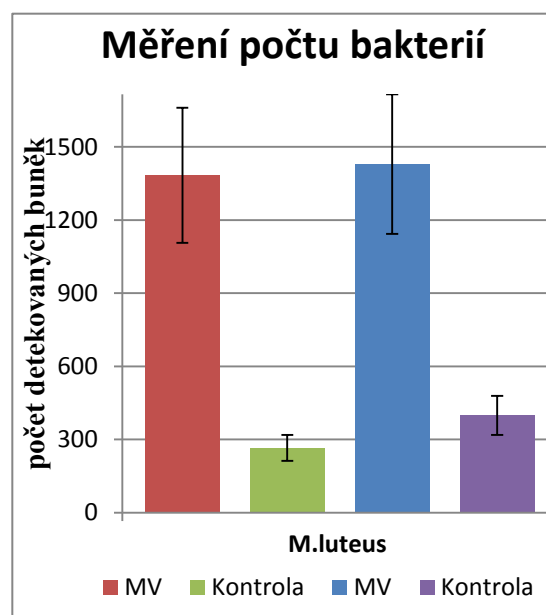
Graf 6: Absorbance u *M. luteus*

Druhou částí experimentu bylo měření fluorescenčního značení. To bylo provedeno jak na začátku měření, tak i po 4 dnech experimentu. Na základě měření z fluorescence lze pozorovat, že mikrovlny nemají žádný vliv na podíl živých a mrtvých bakterií, podíl je stejný na počátku i na konci experimentu (viz tab. 2 v příloze práce). Na druhou stranu mikrovlny výrazně ovlivňují množení bakterií. Počet bakterií stimulo-

vaných mikrovlny je u *E. coli* o 38 % vyšší než v kontrole, u druhého měření sledujeme markantní nárůst o 43 % (viz graf 7). U *M. luteus* jsou rozdíly výraznější. V případě prvního měření je nárůst o 81 %, v případě měření druhého opakování je nárůst vyšší o 73 % (viz graf 8).

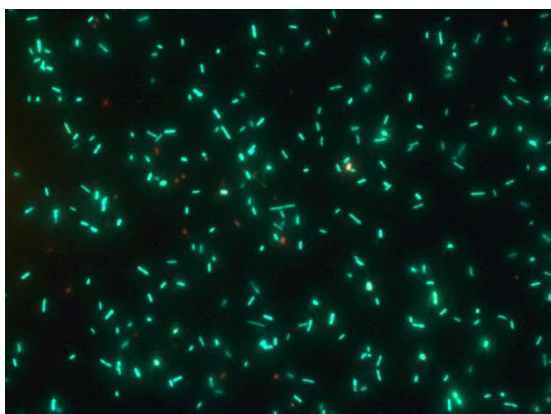


Graf 7: Počet bakterií *E. coli*

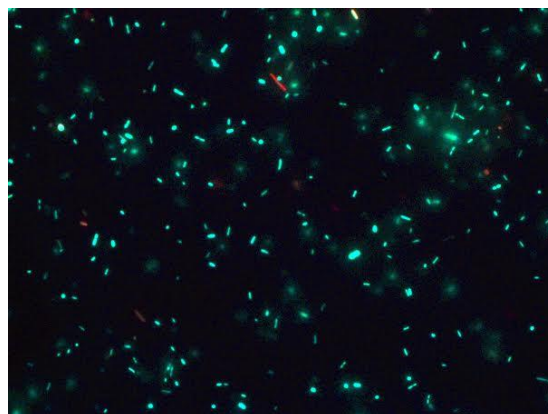


Graf 8: Počet bakterií *M. luteus*

Ukázkové fotografie z fluorescenčního značení ukazují značnou převahu zelených (živých) buněk (viz obr.15 a 16).



Obrázek 15: Fluorescence



Obrázek 16: Fluorescence 2

Z naměřených dat lze vyvodit závěr, že jsou výrazné rozdíly v účinnosti mikrovln na bakterie. Znovu připomeneme, že mikrovlny měli na obsazenou plochu bakteriemi větší vliv v případě *M. luteus* a to o 33 % oproti kontrole v obou opakováních. U *E. coli* byl zaznamenán pouze průměrný nárůst pouze o 7 %. Naopak na průměr velikosti bakterií jsme zaznamenali větší vliv u bakterie *E. coli* a to v průměru o 36 % oproti kontrole. U bakterie *M. luteus* jsme v průměru zaznamenali pouze 20% nárůst.

V dalších částech experimentu, kdy byla zkumavka umístěna do vlnovodu, jsme v případě absorpance nevyhodnotili žádnou odezvu působení mikrovln na bakterie. Dále jsme hodnotili podíly živých a mrtvých bakterií pomocí fluorescenčního značení, která také neprokázala žádný vliv mikrovln. Na druhou stranu ale MV ovlivňují množení bakterií, u *E. coli* se prokázalo v průměru zvýšení o 40 % u zkumavek po expozici mikrovlnami. Avšak největší nárůst po expozici mikrovlnami jsme zjistili u *M. lutea* a to o 77%.

8 Závěr

Během posledních let se neustále vyvíjí nové technologie na bázi využívání elektromagnetického pole, zpravidla využívající mikrovlnné principy, které hrají v oblasti moderní medicíny (mikrobiologie i biotechnologie aj.) stále významnější roli (viz např. magnetická resonance, EKG, EEG, hypertemie, termoterapie, termoablace, atd.). Lze očekávat, že technologie na bázi elektromagnetického pole mají velký potenciál přinést mnoho nových významných příspěvků do terapie a diagnostiky i v blízké budoucnosti a tím zvýšit pravděpodobnost úspěšné léčby pro mnohé pacienty. Konkrétně se rozvíjejí nové metody, např. aplikátory pro lékařské aplikace elektromagnetického pole a plánování léčby, diagnostické systémy na bázi měření odrazu elektromagnetické vlny, expoziční komora pro výzkum netepelných účinků elektromagnetického pole, Výpočty elektromagnetického pole generovaného buněčnými nanostrukturami... [46].

Jak již bylo popsáno v předchozí kapitole, závěry nejsou jednoznačné. I odborná literatura zabývající se touto problematikou přináší rozporuplné výsledky a s našimi experimenty se také zcela neshoduje, pokud jde o nárůst nebo naopak inhibici bakteriální populace po expozici elektromagnetických vln. Z těchto důvodů proto je potřeba tuto problematiku vlivu elektromagnetických polí i nadále studovat, především s ohledem na různé bakteriální populace, intenzity, frekvence a typ elektromagnetického pulsu, šířku pulsu, dobu působení a další. Toto by mělo být námětem pro další studium působení vnějších fyzikálních polí na mikrobiální populace.

Seznam bibliografických citací

- [1] KOHOUT, Jiří. *Téma "mikrovlny" podpořené jednoduchými pokusy*. Plzeň, 2009, str. 1-3. Dostupné z: <http://home.zcu.cz/~jkohout4/diplomka.pdf>. Západočeská univerzita v Plzni
- [2] Z publikace Prevence nehod, havárií a požárů ČSTZ. *Elektromagnetické spektrum*. [obrázek]. Preventivní opatření pro správnou funkci plynových zařízení II. [online]. Dostupné z: <http://energetika.tzb-info.cz/zemni-plyn/5802-preventivni-opatreni-pro-spravnu-funkci-plynovych-zarizeni-ii>
- [3] [8] [12]: KOZIC, Zlatko. *Mapování elektromagnetického pole mikrovlnných zdrojů a jeho absorpce v živých organismech a biologických tkáních*. Liberec, 2011, str. 15. Bakalářská práce. Ústav zdravotnických studií. Vedoucí práce Ing. Martin Truhlář
- [4] HRIVŇÁK, Daniel. *Diferenciální operátory vektorové analýzy* [online]. Ostrava, 2002, str. 3 – 22. [cit. 2014-01-13]. Dostupné z: http://artemis.osu.cz/uvma3/UVMA3_1.pdf
- [5] MAŘÍK, Robert. *Aplikovaná matematika: Diferenciální počet*. 2014, str. 24 – 25. Dostupné z: <http://user.mendelu.cz/marik/am/prezentace.pdf>
- [6] FURIK, Daniel. *Vliv elektromagnetického pole na lidský organismus*. Bakalářská práce, 2013. [online]. Dostupné z: <https://portal.zcu.cz/portal/prohlizeni.html>
- [7] KUPEC, Peter. <http://www.posterus.sk>: Analýza vplyvu rádiových frekvenci na biologický objekt [online]. [cit. 24.4.2014]. Dostupný na WWW: <http://www.posterus.sk/?p=12961>
- [8] ŽELEZNÝ, Pavel. *Vlastnosti elektromagnetického vlnění*. Dostupné z: <http://82.114.195.35:90/Vyuka/%C5%BD%20Pavel/Fyzika/3Rocnik/EMG%20vln%C4%9Bn%C3%AD/05-Vlastnosti%20elektromagnetického%20vlneni.pdf>
- [10] MAYER, Daniel a Josef POLÁK. *Metody řešení elektrických a magnetických polí*: [vysokoškolská učebnice pro elektrotechnické fakulty]. Praha: SNTL, 1983,
- [11] JOHNSON, Erin. The Buzz: Back to Basics with Maxwell's Equations [online]. 2009 [cit. 25.4.2014]. Dostupný z: <http://scienceblogs.com/seed/2009/08/17/the-buzz-back-to-basics-with-m/>

- [13] ČAPEK, Miloslav. *Vlnovod*. Elmag.org [online]. 2009. vyd. [cit. 2014-02-02]. Dostupné z: http://old.elmag.org/doku.php/k317:simulace_elmag_poli:vlnovod
- [14] Zákon č. 127/2005 Sb., o elektronických komunikacích a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o elektronických komunikacích). 22. února 2005
- [15] Zákon č. 480/2000 Sb., o ochraně zdraví před neionizujícím zářením. Sbírka zákonů, Česká republika, částka 139, str. 7582-7621.
- [16] N. Wertheimer, E. Leeper, *Electrical wiring configurations and childhood cancer*, Am. J. Epidemiol. 109, 273–384, 1979.
- [17] E. V. Willet, P. A. McKinney, N. T. Fear, R. A. Cartwright, E. Roman, *Occupational exposure to electromagnetic fields and acute leukaemia: analysis of a case-control study*, Occup. Environ. Med. 60, 577-583, 2003.
- [18] NOVÁK, Jaroslav. *Elektromagnetické pole a zdravotní rizika (IV)*. Tzbinfo [online]. 2007. vyd. [cit. 2014-03-30]. Dostupné z: <http://www.tzb-info.cz/4530-elektromagneticke-pole-a-zdravotni-rizika-iv>
- [19] S. Davis, D. K. Mirick, R. G. Stevens, *Residential Magnetic Fields and the Risk of Breast Cancer*, Am. J. Epidemiol. 155(5), 446–454, 2002.
- [20] J. A. McElroy, P. A. Newcomb, A. Trentham-Dietz, J. M. Hampton, M. S. Kana-
rek, P. L. Remington, *Endometrial Cancer Incidence in Relation to Electric Blanket Use*, Am. J. Epidemiol. 156(3), 262-267, 2002.
- [21] N. Hakansson, P. Gustavsson, C. Johansen, B. Floderus, *Neurodegenerative Diseases in Welders and Other Workers Exposed to High Levels of Magnetic Fields*, Epidemiology, 14, 420–426, 2003.
- [22] A. Ahlbom, A. Green, L. Kheifets, D. Savitz, A. Swerdlow, *Epidemiology of Health effects of radiofrequency exposure*, Environ. Health Persp. 112(17), 1741–1754, 2004
- [23] FOJT, Lukáš. *Působení elektromagnetických polí na biologické systémy*. 2007. 72 l., [65] l. příl. Disertační práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce prof. RNDr. Vladimír Vetterl, DrSc.

- [24] NOVÁK, Jaroslav. www.tzb-info.cz. [obrázek]. [cit. 7.3.2014]. Dostupné z: <http://www.tzb-info.cz/4530-elektromagneticke-pole-a-zdravotni-rizika-iv>
- [25] NASRI, Kaouther, Douraid DAGHFOUS a Ahmed LANDOULSI. *Effects of microwave (2.45 GHz) irradiation on some biological characters of Salmonella typhimurium*. [online]. 2013. vyd. [cit. 2014-04-25]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1631069113000759>
- [26] ROUGIER, C. *Étude des interactions entre la bactérie Escherichia coli et les micro-ondes appliquées en mode discontinu dans des conditions faiblement thermiques*. [online]. 2003 [cit. 2014-04-25]. Dostupné z: <http://epublications.unilim.fr/theses/2003/rougier-carole/rougier-carole.pdf>. Institut des Sciences de la Vie et de la Santé - Glycobiologie Biotechnologie.
- [27] GALVANOVSKIS, Juris a John SANDBLOM. *Periodic forcing of intracellular calcium oscillators Theoretical studies of the effects of low frequency fields on the magnitude of oscillations* [online]. 1998. vyd. [cit. 2014-04-25]. Dostupné z: Periodic forcing of intracellular calcium oscillators Theoretical studies of the effects of low frequency fields on the magnitude of oscillations
- [28] SAMPATHKUMAR, KHACHATOURIANS, a KORBER. *Treatment of Salmonella enterica serovar Enteritidis with a sublethal concentration of trisodium phosphate or alkaline pH induces thermotolerance*. [online]. 2004. vyd. [cit. 2014-04-25]. Dostupné z: <http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-4143145251&origin=inward&txGid=CB60B3F1A0B9F1F7FE8FB313E3C6A4F6.53bsOu7mi7A1NSY7fPJf1g%3a32>
- [29] GUERZONI, LANCIOTTI a COCCONCELLI. *Alteration in cellular fatty acid composition as a response to salt, acid, oxidative and thermal stresses in Lactobacillus helveticus*. [online]. 2011. vyd. [cit. 2014-04-25]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11496002>
- [30] Velký lékařský slovník. [online]. 2008. vyd. [cit. 2014-03-05]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/grampozitivni>
- [31] Velký lékařský slovník. [online]. 2008. vyd. [cit. 2014-03-05]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/gramnegativni>

- [32] Mikrobiologie a virologie: *Bakterie*. Biomach, výpisky z biologie [online]. [cit. 2014-02-05]. Dostupné z: <http://www.biomach.cz/mikrobiologie/bakterie>
- [33] KOMORNICZAK. *Bacterial growth* [obrázek]. 2011 [cit. 2014-02-06]. Dostupný z: <http://www.wikiskripta.eu>
- [34] *Dynamika bakteriálního růstu*. [online]. [cit. 2014-02-06]. Dostupné z: http://rustreg.upol.cz/vyuka/microbiology/04_Dynamika_bakterialniho_rustu.pdf
- [35] VOTAVOVÁ, Lenka. *Faktory ovlivňující růst mikroorganismů*. 2005. [cit. 2014-02-06]. Dostupné z: http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&cad=rja&ved=0CEwQFjAE&url=http%3A%2F%2Fwww.vscht.cz%2Ftk%2Fwww_324%2Fstudium%2FKP%2Fppt%2Ffaktory_mo.ppt&ei=RnwPU9eWBKaP4gTWnYGoAg&usg=AFQjCNHBVR3b846YVCOxvDHapjkaqdi3cA&sig2=s_T6QR2h1qL6Hrl6vGC_OQ&bvm=bv.61965928.d.bGE
- [36] [37] PHARMA-REPORTS. *Klinicky významné bakterie*. 1. Vyd. Praha: Triton, 2012, str. 47-51, str. 71, ISBN 978-80-7387-588-6
- [38] Life technologies: *LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability Kit, for microscopy*. [online]. [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/L7007>
- [39] *Fluorescenční mikroskopie* [online]. [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://web.natur.cuni.cz/~parazit/parpages/mikroskopickatechnika/fluorescencni.htm>
- [40] KVASNICOVÁ, Vladimíra. *Analytické metody: Spektrofotometrie*. Dostupné z: http://www.lf3.cuni.cz/opencms/export/sites/www.lf3.cuni.cz/cs/pracoviste/chemie/vyuka/studijni-materialy/CCBGCH21/pro-kruhy/vk_analyticke_metody_web.pdf
- [41] Agar plate: *Types of agar plates*. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2014-04-10]. Dostupné z: http://en.wikipedia.org/wiki/Agar_plate?oldid=215782356#Blood_agar_types
- [42] PŘÁDA, Jan. *Desinfekce rukou* [obrázek]. 2011 [cit. 2014-04-10]. Dostupný z: <http://www.wikiskripta.eu>
- [43] Trypton – sojový bujón - TSB. *LabMediaServis* [online]. 2012. vyd. [cit. 2014-04-11]. Dostupné z: <http://www.labmediaservis.cz/kultivacni-media/trypton-sojovy-bujon>

[44] Diffen. *Gram-negative Bacteria vs Gram-positive Bacteria* [online]. [cit. 2014-04-25]. Dostupné z: http://www.diffen.com/difference/Gram-negative_Bacteria_vs_Gram-positive_Bacteria

[45] KAČALOVÁ, Magdaléna. *Vlivy rozdílů v parametrech Gramova barvení na výslednou barevnost bakterií*. 2009, str. 13 - 18. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/176557/lf_b/Text_prace.pdf. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně - Lékařská fakulta. Vedoucí práce MUDr. Ondřej Zahradníček.

[46] *Biomedicínské a ekologické aplikace EM pole*. *Elmag.org* [online]. 2013. vyd. [cit. 2014-04-13]. Dostupné z: <http://elmag.org/cs/lekarske-aplikace-mikrovlnne-techniky>

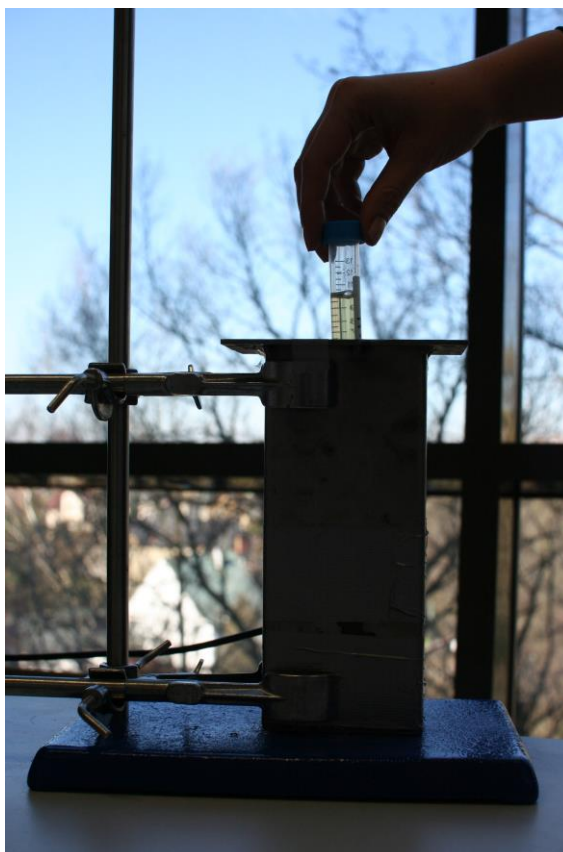
BOHATÁ, Martina. *Vliv magnetického pole na bakteriální biofilm*. Liberec, 2013. Bakalářská práce. Technická univerzita v Liberci - Ústav zdravotnických studií. Vedoucí práce Ing. Lucie Křiklavová, Ph.D.

Seznam příloh

Příloha A - CD

Příloha B - Fotografie

1. Nasazení E. coli do soji – 1.opakování



Seznam tabulek

Tabulka 2: Zastoupení živých a mrtvých bakterií

název	živé bakterie (%)	mrtvé bakterie (%)
počáteční E. coli z 24.2.2014	95	5
odběr E. coli z 28.2.2014 - MV	95	5
odběr E. coli z 28.2.2014 - Kontrola	96	4
počáteční E. coli z 28.2.2014	97	3
odběr E. coli z 4.3.2014 - MV	98	2
odběr E. coli z 4.3.2014 - Kontrola	98	2
počáteční M. luteus z 6.3.2014	98	2
odběr M. luteus z 10.3.201 - MV	98	2
odběr M. luteus z 10.3.201 - Kontrola	98	2
počáteční M. luteus z 10.3.2014	98	2
odběr M. luteus z 14.3.2014 - MV	98	2
odběr M. luteus z 14.3.2014 - Kontrola	98	2